

**ÜBER DIE WIRKUNG DES ERGOTAMINTARTRATS AUF DEN
HYALURONIDASE-SPREADING-HEMMUNGS-EFFEKT DURCH
SUBCUTANE ADRENALIN-APPLIKATIONEN**

Elisabeth Krohn
München
1966

1967

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Professor Dr. W. Seitz

ÜBER DIE WIRKUNG DES ERGOTAMINTARTRATS AUF DEN
HYALURONIDASE-SPREADING-HEMMUNGS-EFFEKT DURCH
SUBCUTANE ADRENALIN-APPLIKATIONEN

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

E l i s a b e t h K r o h n
aus München

München 1966



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Priv. Doz. Dr. H. MATHIES
Korreferent: Professor Dr. W. SEITZ
Dekan: Professor Dr. M. Kiese

Tag der mündlichen Prüfung: 14.2.1967

Fotodruck: Mikrokopie GmbH, 8 München 22, Bruderstraße 9

Meinen Eltern gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

I. PROBLEMATIK	5
II. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	10
1. Methodik	10
2. Versuchsreihen	12
3. Versuchsergebnisse	13
4. Statistische Auswertung	14
5. Besprechung der Versuchsergebnisse	19
III. DISKUSSION	21
IV. ANHANG: Tabellen und Abbildungen	23
V. ZUSAMMENFASSUNG	45
VI. LITERATURVERZEICHNIS	46

I. P R O B L E M A T I K

Die hyaluronidasehemmende Wirkung verschiedener antirheumatischer Substanzen wurde in früheren Arbeiten von MATHIES und Mitarbeitern (1-20) bestätigt bzw. nachgewiesen. Die Untersuchungen erstreckten sich auf Salizylate (1), Pyrazolonderivate (2-4), Glukokortikoide (5), Bienengift (6) und im Moor wirksame Substanzen (7-10). Auch in der vorliegenden Arbeit wurde, wie bereits in den obengenannten angewandt, nach der Methodik des Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading-Tests verfahren.

Verschiedene Autoren haben die Hyaluronidasehemmung einiger dieser Substanzen auch im in-vitro-Versuch untersucht, jedoch konnte in üblichen Dosen kein Effekt festgestellt werden. Nur durch abnorm hohe Dosis wurde in einigen Fällen eine Hyaluronidasehemmung erzielt. Hiermit konnte angenommen werden, daß bei antirheumatisch wirkenden Substanzen ein nur in-vivo bestehender hyaluronidasehemmender Effekt vorliegt, dessen Wirkungsmechanismus abzuklären war.

Bei der Erörterung der Frage des Wirkungsablaufes hyaluronidasehemmender Substanzen wurde auch der Übertragungsweg über die Nebenniere in Betracht gezogen. Verschiedene der als hyaluronidasehemmend bekannten Substanzen wurden deshalb adrenaletomierten Ratten appliziert. Anhand dieser Versuche wurde festgestellt, daß deren hemmender Effekt hierbei ausblieb (2,5,6,12-14). Somit konnte angenommen werden, daß ein über die Nebenniere laufender Wirkungsmechanismus bestimmter hyaluronidasehemmender Substanzen vorliegt. Weiterhin mußte geklärt werden, ob Nebennierenmark oder Nebennierenrinde dafür verantwortlich waren.

Nach Untersuchungen von DOMENJOZ (15) bewirken Salizylate und Pyrazolonkörper eine Abnahme des Ascorbinsäuregehaltes der Nebennieren, der nach SAYERS und SAYERS (16,17) Ausdruck einer Nebennierenrindenstimulierung ist. Es müßte also die Frage

gestellt werden, ob die geprüften hyaluronidasehemmenden Substanzen eine Aktivierung der Nebennierenrinde hervorrufen und ob diese wiederum eine Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität im Spreading-Test verursacht. Diese Untersuchungen wurden in Arbeiten von MATHIES (13,14) auf Moorapplikationen bei weißen Ratten ausgedehnt, wobei die gleichen Verhältnisse gefunden wurden.

Bei ähnlichen Versuchen an hypophysektomierten Ratten konnte dagegen eine Abnahme des Ascorbinsäuregehaltes der Nebennieren nicht festgestellt werden, worin eine Bestätigung der vermuteten rinden-stimulierenden Wirkung der hyaluronidasehemmenden Stoffe auf dem Wege über die Hypophyse zu finden war. Was jedoch die hyaluronidasehemmende Wirkung der entsprechenden Substanzen betrifft, so konnten MATHIES und Mitarbeiter in einigen Arbeiten (2,5,6,12-14) nachweisen, daß sie auch bei hypophysektomierten Ratten erhalten bleibt. Aus diesen Versuchsergebnissen ist ersichtlich, daß die hyaluronidasehemmenden Stoffe zwar eine Stimulierung der Nebennierenrinde bewirken, andererseits diese jedoch nicht Ursache für den Effekt der Hyaluronidasehemmung ist; da dennoch das Vorhandensein intakter Nebennieren für den in-vivo hyaluronidasehemmenden Effekt erforderlich ist, blieb anzunehmen, daß der Wirkungsmechanismus auf dem Weg über das Nebennierenmark läuft. Mehrere Arbeiten von MATHIES und Mitarbeitern (18-29), nach denen die intravenöse oder subcutane Gabe von Nebennierenmarkkatecholaminen sowohl bei intakten, wie auch bei adrenalektomierten Ratten eine Hyaluronidasehemmung hervorriefen, gaben eine Bestätigung dieser Vermutung. Auch Untersuchungen über die den hyaluronidasehemmenden Effekt anti-rheumatischer Substanzen aufhebende Wirkung des Adrenolytikums Ergotamin-Tartrat (20) bekräftigten die Vermutung. Der hyaluronidasehemmende Effekt des Adrenalins und Nor-Adrenalins wurde durch eine entsprechende Dosis Ergotamin aufgehoben. Nach Verabreichung von ganglienblockierenden Mitteln kommt es lediglich zu einer Blockierung des hyaluronidasehemmenden Effektes von Salizylaten, Pyrazolonen, Glukokorti-

koiden, Bienengift und anderen antirheumatisch wirksamen Substanzen, nicht jedoch zu dem von Adrenalin und Nor-Adrenalin, womit der über das Nebennierenmark laufende Mechanismus augenscheinlich wird.

Die Erforschung der Wirkungsweise der Nebennierenmarkkatecholamine hinsichtlich ihres hyaluronidasehemmenden Effektes führte zu dem Ergebnis (22), daß deren Bedeutung nicht in ihrer pharmakologischen Wirkung allein zu suchen ist; denn vergleichende Untersuchungen bei Ratten über den Einfluß des Adrenalin auf deren Pupillenweite zeigten, daß die hyaluronidasehemmende Wirkung zu einem wesentlich späteren Zeitpunkt auftritt, nachdem die Pupillengröße bereits wieder auf ihre normale Weite zurückgegangen ist.

Infolgedessen wurde die Frage aufgeworfen, ob möglicherweise nicht die Nebennierenkatecholamine selbst, sondern deren Metaboliten für die hyaluronidasehemmende Wirkung verantwortlich seien. Es wurde außerdem diskutiert, ob sie in der vagalen Gegenregulation zu suchen sei; und es kam die Zwischenschaltung anderer unbekannter Funktionsabläufe in Betracht, die in einer zeitlich hinausgeschobenen Reaktion auf die Applikation der bestimmten Substrate ihren Ausdruck finden müßte.

Abklärende Untersuchungen an adrenaletomierten Ratten zeigten, daß auch bei einer Adrenalin-Dauerinfusion über 2 Stunden während dieser Zeit keinerlei Einfluß des Substrats auf die Hyaluronidasehemmung erkennbar ist (23). Da sich in dieser Zeit genügend Katecholaminmetaboliten gebildet haben müßten, um den geforderten Effekt zu erreichen, dieser jedoch nicht eintritt, wird damit die Möglichkeit, daß die Katecholaminmetaboliten für den hyaluronidasehemmenden Effekt verantwortlich seien, ausgeschaltet.

Weitere Versuche über eine hyaluronidasehemmende Wirksamkeit von Acetylcholin bei adrenaletomierten Ratten (24) widerlegten auch die Möglichkeit der vagalen Gegenregulation, da hierbei keine Reaktion gefunden wurde.

Zudem konnte das Auftreten der Hyaluronidasehemmung zu einem feststehenden Zeitpunkt nach der Katecholaminapplikation durch den Dauerinfusionsversuch nicht nachgewiesen werden. Dagegen wurde jedoch nach einmaliger Gabe von Katecholaminen bei Versuchen mit ebenfalls adrenaletomierten Ratten schon nach 15 bis 45 Minuten, je nach Höhe der Dosis, das Maximum der hyaluronidasehemmenden Wirkung gefunden (22).

Unmittelbar nach Absetzen der Adrenalin-Dauerinfusion wurde bei den Versuchen mit adrenaletomierten Tieren eine Hyaluronidasehemmung beobachtet (24). Als Ursache dieser Reaktion wurde der plötzliche Niveauwechsel oder das Absinken des vorher dauernd auf gleicher Höhe gehaltenen Adrenalin-Spiegels im Blut angesehen. Versuche, nach denen es durch zusätzliche Adrenalin-Applikationen während einer bereits laufenden Dauerinfusion zu einer Hyaluronidasehemmung kommt, bekräftigten diese Vermutung (24).

Es führen also auch bereits Niveau-Differenzen ausreichender Größe zu einer Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität, wogegen das Absinken eines erhöhten Adrenalinspiegels auf sein Normalniveau dafür nicht allein notwendig ist.

Im Gegensatz zu den obengenannten Versuchen ergaben, bei gleicher Versuchsanordnung, jene an intakten Ratten durchgeführten schon während der Infusionszeit eine Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität (25). Hieraus wäre möglicherweise zu folgern, daß auf dem Weg über die Hypophyse eine Beeinflussung der Nebennierenrinde stattfindet, die zu einer zusätzlichen Katecholaminfreisetzung aus dem Nebennierenmark durch Rindensteroiden führt. Aber das Auftreten einer Hyaluronidasehemmung während des Dauerinfusionsversuches auch bei hypophysektomierten Tieren widerlegte diese Hypothese. MALORNY (26) und FORST (27) weisen darauf hin, daß es sich dabei um eine direkte Reizung des katecholaminfreisetzenden Nebennierenmarkes durch die künstliche Zufuhr der gleichen Wirksubstanz handeln kann, die eine erhöhte Ausschüttung zur Folge hat.

Bei der Beurteilung der zu einer eindeutigen Hemmung der Hya-

luronidase-Aktivität führenden Dosen der Wirksubstanz Adrenalin wurde bei intakten Tieren $1\gamma/100$ g Tier (20) und bei adrenaletomierten Tieren 1γ und $6\gamma/100$ g Tier (22) als ausreichend erkannt. Dagegen konnte bei $0,5\gamma/100$ g Tier bei kürzerer Versuchszeit kein eindeutiger Effekt festgestellt werden. Bei der Verabreichung von antirheumatisch wirkenden Substanzen wurde eine Abnahme des Katecholamingehaltes des Nebennierenmarkes um etwa die Größenordnung beobachtet, wie sie zu einer eindeutigen Hyaluronidasehemmung auch durch direkte Katecholaminapplikation benötigt wird (2,13,27,28).

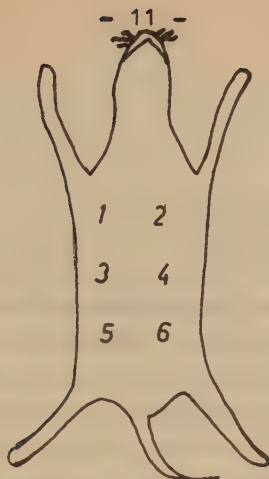
VOGEL, ÜBEL und MAREK konnten in ihren Untersuchungen (29) keine blockierende Wirkung des Ergotamins auf den hyaluronidasehemmenden Effekt des Adrenalins feststellen, wie sie von MATHIES und Mitarbeitern beschrieben wurde. Allerdings applizierten sie Adrenalin s.c. und nicht i.v. wie MATHIES und Mitarbeiter. Hierbei erhebt sich die Frage, ob durch die s.c. Applikation des Adrenalin andere Verhältnisse gegenüber der i.v. Applikation vorliegen, die dadurch bedingt sind, daß durch langsamere Resorption des Adrenalins keine genügend hohe Katecholamin-Blutspiegel-Steigerung erzielt wird, nach deren Abfall es zu einer Hyaluronidasehemmung kommt. Dadurch würde eine hyaluronidasehemmende Wirkung des Ergotamins sichtbar werden, wie sie GÖNNENWEIN (30) beschrieb, die damit eine nicht blockierte hyaluronidasehemmende Wirkung des Adrenalins vortäuschen würde. Es war in der folgenden Arbeit also zu untersuchen, ob auch die s.c. Adrenalin-Applikation eine hyaluronidasehemmende Wirkung entfaltet. In den Versuchen wurde außerdem eine niedrigere Dosis gegenüber den bisherigen Versuchen gewählt, da VOGEL und Mitarbeiter die Dosis von $1\gamma/100$ g Tier für relativ hoch ansahen.

II. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1. METHODIK

Als Versuchstiere wurden bei dieser Arbeit männliche weiße Ratten mit einem Durchschnittsgewicht von 190 g verwendet. Die Narkose wurde zunächst mit Äther eingeleitet und anschließend mit einer 10 %igen Evipan-Natrium-Lösung durchgeführt, die in einer Menge von 0,3 ml/100 g Tier unter die Rückenhaut injiziert wurde. Nach WILHELM (31) besteht bei dieser Versuchsanordnung kein störender Einfluß von Barbituraten auf die Aktivität der Hyaluronidase.

Um für die Versuche an die Bauchhaut zu gelangen, wurde sie vorher mit einem Haarentferner (Pilca) enthaart und mit physiologischer Kochsalzlösung gereinigt. Anschließend wurde nach einem Lokalisationsplan ("Lateinisches Quadrat") und nach einem bestimmten Zeitplan (siehe einzelne Versuchszeiten!) Quaddeln mit jeweils 0,1 ml einer Farbstoff- bzw. einer Farbstoff-Hyaluronidase-Lösung streng intracutan injiziert. Für die Farbstoffquaddeln (F) wurde eine 0,06 %ige Evans-Blue-Lösung in einer Menge von 0,1 ml benötigt, der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel (FH) wurden in der gleichen Menge der gleichen Lösung 7,5 E einer hochgereinigten Testes-Hyaluronidase beigemischt. Die Bauchhaut der Tiere wurde in 6 gleichgroße Felder eingeteilt, in die jeweils eine Quaddel zu setzen war. Diese bestanden aus drei Paaren der oben genannten Typen, wobei außer den beiden Quaddelpaaren zu den festgesetzten Versuchszeiten (F_t und FH_t) nach Gabe der zu untersuchenden Substanzen vorher die beiden Kontrollquaddeln F und FH gesetzt wurden. Die für die Versuchsanordnung in Frage kommenden 6 verschiedenen Lokalisationsmöglichkeiten sind aus untenstehender Skizze ersichtlich:



Die Versuchsanordnung wurde als "Lateinisches Quadrat" angelegt, damit sich aus der Lokalisation der Quaddeln ergebende Abweichungen nach Möglichkeit die Versuchsergebnisse nicht verfälschen. Für jede Versuchsreihe ergab sich somit, entsprechend der Anzahl der Lokalisationsmöglichkeiten, die Zahl von sechs Versuchstieren, um jede einzelne der 36 Quaddeln an einen anderen Applikationsort zu setzen.

Die Versuchssubstanz Gynergen wurde 20 Minuten vor der Versuchssubstanz Adrenalin verabreicht. Beide Lösungen wurden unter die seitliche Rückenhaut injiziert, wobei die Dosis an Gynergen 0,8 mg/100 g Tier und an Adrenalin 0,5 μ /100 g Tier betrug. Zu Vergleichszwecken wurde eine Versuchsserie mit Gabe von 0,5 ml physiologischer Kochsalzlösung pro 100 g Tier, also nur die Menge des Lösungsmittels obengenannter Substrate allein, durchgeführt. Als Maß für die Diffusionsgeschwindigkeit der Farbstoff- und der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddeln galt deren intrakutane Ausbreitung, die nach genau 10 Min. post inj. abgemessen wurde. Der Umfang der Quaddeln wurde zum Ablesungszeitraum in einen durchsichtigen Filmstreifen eingraviert. Die auf diese Weise abgegrenzte Fläche wurde mit einem Planimeter ausgemessen und in qmm angegeben. Wie bereits vorher erwähnt, muß die Ablesung innerhalb der ersten 10 Min. post inj. erfolgen, da nach MADINAVEITIA (32) das Spreading der Quaddeln in zwei Phasen verläuft und lediglich die in diesem Zeitraum erfolgende Reaktion als sicherer Effekt der Hyaluronidase zu werten ist.

2. VERSUCHSREIHEN

Serie I: Versuchsreihen 1-3

Gabe von Adrenalin: 0,5 γ /100 g Tier.

Meßzeiten nach Applikation der Versuchssubstanz:

0 Minuten und	45 Minuten	(Reihe 1)
15 " "	90 "	(Reihe 2)
120 " "	150 "	(Reihe 3)

Serie II: Versuchsreihen 4-6

Gabe von Gynergen: 0,8 mg/100 g Tier 20 Minuten
vor Applikation von Adrenalin 0,5 γ /100 g Tier.

Meßzeiten nach Injektion von Adrenalin:

0 Minuten und	45 Minuten	(Reihe 4)
15 " "	90 "	(Reihe 5)
120 " "	150 "	(Reihe 6)

Serie III: Versuchsreihen 7-9

Gabe von 0,5 ml physiologischer Kochsalzlösung
ohne Wirkstoffzusatz.

Meßzeiten nach Applikation:

0 Minuten und	45 Minuten	(Reihe 7)
15 " "	90 "	(Reihe 8)
120 " "	150 "	(Reihe 9)

Anhand der Versuchsergebnisse der Serie III sollte nachgewiesen werden, ob und inwieweit die Versuchstiere durch die vorbereitenden Maßnahmen wie Narkose, Reinigung der Bauchhaut, Substratinjektionen usw. beeinflusst und die Ergebnisse dadurch eventuell verändert würden.

3. VERSUCHSERGEBNISSE

Auf der oberen Hälfte der Tabellen 1a - 9a (Serie I - III) sind die "Lateinischen Quadrate" und auf der unteren Hälfte die zu den Lokalisationen jeweils gefundenen Einzelwerte wiedergegeben. Die Mittelwerte aus den Ergebnissen der jeweils für eine Versuchsreihe benötigten sechs Tiere wurde im Rahmen der statistischen Auswertung errechnet. In den Tabellen 1b - 9b sind die Mittelwertsdifferenzen, die u.a. zur Erstellung der graphischen Darstellung der Versuchsergebnisse erforderlich waren, aufgeführt. Die Abbildungen I - III zeigen sie in übersichtlicher Form. Für die Beurteilung der Wirkung der verschiedenen Versuchssubstanzen bezüglich ihrer Hyaluronidasehemmung waren sie von entscheidender Bedeutung.

4. STATISTISCHE AUSWERTUNG DER VERSUCHSERGEBNISSE

a) Methodik und statistisches Modell

Die Methoden, die zur statistischen Auswertung der Versuche herangezogen wurden, ergaben sich aus der Anlage der Versuchspläne, nach denen die Versuche durchgeführt wurden. Die Versuchspläne wurden in Form von "Lateinischen Quadraten" entworfen, Die gereinigte Bauchhaut der Versuchstiere wird dabei in ein Versuchsfeld mit sechs verschiedenen Feldern eingeteilt; diesen stehen sechs verschiedene Verfahren gegenüber. Diese setzen sich aus je einer Kontrollzeit und je zwei Versuchszeiten für jeden der beiden Quaddeltypen, Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel und reine Farbstoff-Quaddel zusammen. Jeder Versuch einer Versuchsreihe wird zudem noch an sechs verschiedenen Tieren durchgeführt.

Mit der Anlage der Versuche im "Lateinischen Quadrat" werden drei verschiedene systematische Faktoren erfasst, die möglicherweise einen Einfluß auf das Ergebnis des Versuchs haben. Diese Faktoren sind einmal die Lokalisation der jeweiligen Quaddel auf der Bauchhaut der Versuchstiere, dann die Wirkung des jeweiligen Verfahrens, und schließlich die individuelle Reaktionslage des jeweiligen Versuchstieres. Entsprechend der Fragestellung, welche den Versuchen zugrundelag, interessierte vor allem die Größe der Wirkung der einzelnen Verfahren. Die Kenntnis des Einflusses der anderen beiden systematischen Faktoren dient dazu, die Präzision des Versuches zu erhöhen. Würde man den Einfluß dieser Faktoren nicht berücksichtigen, so gingen sie in die experimentelle Variabilität der Meßwerte ein und würden damit möglicherweise eine Vergrößerung dieser Variabilität bewirken. Die experimentelle Variabilität der Meßwerte, welche diejenigen Unterschiede zwischen den Meßwerten darstellt, die nicht mehr durch die drei obengenannten Faktoren erklärt werden können, ist ein Maß für die Genauigkeit der Methodik und der

Gleichartigkeit in der Reaktion der Tiere auf die experimentellen Eingriffe.

Zur statistischen Auswertung von Versuchen, die als "Lateinische Quadrate" angelegt worden sind, wurden ganz bestimmte Formen von Varianz-Analysen entwickelt. Im vorliegenden Falle werden dadurch die systematischen Einflüsse, welche die Versuchstiere und die Lokalisationen auf das Versuchsergebnis haben, in Form der Varianz-Komponenten "zwischen den Tieren" und "zwischen den Lokalisationen" erfaßt; die unterschiedliche Wirksamkeit der sechs Verfahren wird durch die Varianz-Komponente "zwischen den Verfahren" ermittelt. Die experimentelle Variabilität, d.h. der Anteil der Variabilität der Versuchswerte, der nicht mehr auf die oben benannten systematischen Faktoren zurückzuführen ist, wird in diesen Varianz-Analysen als "Rest-Varianz" bestimmt. Die Frage, ob einer der betrachteten Faktoren einen nicht mehr als zufällig anzusehenden Einfluß hat, wird geprüft, indem die entsprechende Varianz-Komponente mit der experimentellen Variabilität mit Hilfe des F-Testes verglichen wird. Ergibt sich hierbei, daß die Varianz-Komponente, welche zu einem statistischen Faktor gehört, statistisch wesentlich höher ist, als die experimentelle Variabilität, so darf dies als eine statistische Sicherung dafür angesehen werden, daß dieser systematische Faktor einen nicht mehr zufälligen Einfluß ausübt.

Hinsichtlich der Unterschiede in der Wirksamkeit der Verfahren interessierte bei den vorliegenden Versuchen primär die Frage, ob bei den einzelnen Quaddel-Typen zwischen den Versuchszeiten und den Kontrollen Unterschiede vorliegen. Diese Frage wurde mit Hilfe von orthogonalen Vergleichen geprüft, bei denen die Varianz-Komponente "Zwischen den Verfahren" in fünf Einzel-Komponenten zerlegt wurde. Hierbei wurde für jeden Quaddel-Typ geprüft, ob zwischen den Versuchszeiten und der Kontrolle ein statistisch gesicherter Unterschied vorliegt.

Den Versuchsplänen und damit den Varianz-Analysen liegt ein lineares statistisches Modell zugrunde, dem entspricht, daß

als Maß für die Größe der Wirksamkeit der einzelnen Verfahren die Differenz zwischen ihren Mittelwerten angesehen wird, wobei diese Mittelwerte aus allen Werten gebildet werden, die für das betreffende Verfahren an den sechs Versuchstieren beobachtet wurden. Diese Mittelwertsdifferenzen haben wir in den Tabellen für die Versuchszeiten gegenüber der jeweiligen Kontrolle angegeben, und zwar in der mit " $\delta \bar{x}(t) = \bar{x}(t) - \bar{x}(K)$ " überschriebenen Spalte. Ein negatives Vorzeichen dieser Mittelwertsdifferenz $\delta \bar{x}(t)$ bedeutet, daß eine Verminderung der Diffusionsgeschwindigkeit zu den Versuchszeiten gegenüber der Kontrolle vorliegt; im Falle der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel bedeutet das, daß eine Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität zu den Versuchszeiten beobachtet werden konnte.

b) Darstellung der Ergebnisse der statistischen Auswertung

Die Ergebnisse der statistischen Auswertung sind in den Tabellen 1b - 9b angegeben. Die Varianz-Analysen sind im ersten Teil der Tabellen angeführt, darunter der Mittelwert $\bar{x}(t)$ in qmm, die Mittelwertsdifferenz $\delta \bar{x}(t) = \bar{x}(t) - \bar{x}(K)$ der einzelnen Verfahren gegenüber der Kontrolle, sowie die Irrtumswahrscheinlichkeit, mit der behauptet werden kann, daß die betreffende Mittelwertsdifferenz $\delta \bar{x}(t)$ statistisch gesichert von 0 verschieden ist. Diese Irrtumswahrscheinlichkeit wurde aber nur angegeben, wenn sie bis höchstens 5 % beträgt, da nur in diesem Falle von einer statistischen Sicherung gesprochen werden kann. Außerdem ist noch die in üblicher Weise errechnete prozentuale Hemmung der Quaddeln zu den Versuchszeiten gegenüber den Kontroll-Quaddeln angegeben.

Zeichenerklärung für die Schemata der Varianz-Analysen:

- n: Zahl der Freiheitsgrade der Varianz-Komponente
- SAQ: Summen-Abstands-Quadrat der Varianz-Komponente
- MAQ: Mittleres-Abstands-Quadrat der Varianz-Komponente
- F_{emp} : Varianz-Quotient zwischen der jeweiligen Varianz-Komponente und der experimentellen Variabilität (Rest-Varianz)
- p: Überschreitungswahrscheinlichkeit des Varianz-Quotienten F_{emp} in der zugehörigen F-Prüfverteilung

c) Diskussion der Ergebnisse der statistischen Auswertung

Serie I: Versuchsreihen 1-3

Gabe von 0,5 μ g Adrenalin pro 100 g Tier.

Hier liegen zu allen Zeiten statistisch hoch gesicherte Hemmungen der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel vor. Auch für die reine Farbstoff-Quaddel liegt zu allen Versuchszeiten bis zu 90 Minuten eine statistisch faßbare Hemmung ihrer Ausbreitungsgeschwindigkeit vor.

Serie II: Versuchsreihen 4-6

0,8 mg Gynergen pro 100 g Tier 20 Minuten vor
Adrenalingabe 0,5 μ g/100 g Tier.

Weder für die reine Farbstoff-Quaddel noch für die Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel läßt sich in dieser Versuchsanordnung eine statistisch faßbare Hemmung der Ausbreitungsgeschwindigkeit nachweisen.

Serie III: Versuchsreihen 7-9

Gabe von physiologischer Kochsalzlösung 0,5 ml
pro 100 g Tier.

Es zeigt sich hier nur bei der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel zu den Zeitpunkten 120 und 150 Minuten eine statistisch gesicherte Hemmung ihrer Ausbreitungsgeschwindigkeit. Die reine Farbstoff-Quaddel weist zu keiner Versuchszeit eine statistisch faßbare Veränderung auf.

d) Prozentuale Berechnung der Hemmung der Ausbreitungsgeschwindigkeit der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddeln (FH)

Bei den Berechnungen der Hyaluronidase-Hemmung wurde angenommen, daß die Ausbreitungsgeschwindigkeit der Farbstoff-Quaddel, die vor Belastung der Tiere mit der zu prüfenden Substanz gesetzt wurde (F_V), wegen des fehlenden Hyaluronidasezusatzes einer 100 %igen Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität gleichkommt und daß die Farbstoff-Hyaluronidase-Kontroll-Quaddel (FH_V) eine 0 %ige Hemmung aufweist. Die in der unteren Hälfte der Tabellen 1b - 9b angegebenen Werte in der Spalte "Hemmung" sind, ausgehend von diesen Voraussetzungen, nach folgender Formel errechnet worden:

$$\frac{(FH_V - FH_t) \times 100}{FH_V - F_V} = \text{Hemmung in \%}$$

Mit den Farbstoff-Quaddeln, die nach Belastung der Tiere mit der zu testenden Substanz gesetzt wurden, sollte statistisch nachgewiesen werden, in welcher Weise diese Substanz die Ausbreitung einer Quaddel ohne Hyaluronidasezusatz beeinflusst.

5. BESPRECHUNG DER VERSUCHSERGEBNISSE

Serie I: Versuchsreihen 1-3.

Adrenalin 0,5 γ /100 g Tier.

Adrenalin wirkt während des ganzen Versuches auf die Hyaluronidaseaktivität eindeutig hemmend und zwar sowohl auf die Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel, als auch auf die reine Farbstoff-Quaddel. Das Maximum der Hemmung lag bei 45 Min. post inj., ging bei 120 Min. auf ein Minimum zurück, um bei 150 Min. erneut anzusteigen. Schon unmittelbar nach der Injektion konnte eine beträchtliche Hemmung festgestellt werden. Sie betrug für die Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel zum Zeitpunkt / Min. 39 mm² (Mittelwertsdifferenz), zum Zeitpunkt des Maximums bei 45 Min. 59 mm², zum Zeitpunkt des Minimums bei 120 Min. 31 mm². Die Hemmung der reinen Farbstoff-Quaddel blieb zu allen Versuchszeiten etwa 20 mm² geringer als die der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel. Die Kurve der beiden Quaddel-Typen laufen in der genannten Differenz nahezu parallel (s. Abb. I).

Serie II: Versuchsreihen 4-6.

Gynergen 0,8 mg/100 g Tier 20 Min. vor s.c. Gabe von Adrenalin 0,5 γ /100 g Tier.

Bei der Applikation von Gynergen s.c. 20 Min. vor der Adrenalin-Gabe wurde lediglich zum Versuchszeitpunkt 45 Min. eine Hemmung von 11mm² bei der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel festgestellt; während die reine Farbstoff-Quaddel zu keinem Zeitpunkt des Versuchs eine Hemmung aufweist. Daraus ergibt sich, daß die verwendete Menge von 0,8 mg/100 g Tier die hyaluronidasehemmende Wirkung von Adrenalin 0,5 γ /100 g Tier aufhebt.

Serie III: Versuchsreihen 7-9.

Physiologische Kochsalzlösung 0,5 ml/100 g Tier.

Diese Serie wurde unter denselben Versuchsbedingungen aus-

geführt wie die Serien I und II. Statt Adrenalin in der in Serie I angegebenen Menge wurde physiologische Kochsalzlösung 0,5 ml/100 g Tier s.c. injiziert. Diese Kontrollversuche wurden angestellt, um die Möglichkeit einer zusätzlichen Belastung der Versuchstiere mit folgender Schock- oder Stresswirkung durch die Versuchsmanipulationen wie Narkose, Reinigung der Bauchhaut, Substrat-Injektion, Farbstoff-Injektion usw. entweder nachzuweisen oder auszuschließen.

Es konnte nur bei 120 Min. und 150 Min. eine minimale Hemmung festgestellt werden. Daraus ergibt sich, daß durch die Versuchsanordnung keine wesentliche Beeinträchtigung der Versuchsergebnisse zu erwarten ist.

III. DISKUSSION

Die oben beschriebene blockierende Wirkung des Ergotamin-tartrats auf den hyaluronidasehemmenden Effekt des Adrenalins wurde in einer Arbeit von VOGEL, ÜBEL und MAREK (29) in Zweifel gezogen, da diese den genannten Effekt in einer anderen Versuchsanordnung nicht beobachten konnten.

Hierbei sind zunächst die Unterschiede in den Versuchsbedingungen zwischen MATHIES und Mitarbeitern (20) und VOGEL und Mitarbeitern (29) herauszustellen. MATHIES und Mitarbeiter applizierten Adrenalin intravenös, während VOGEL und Mitarbeiter ihren Versuchen subcutane Adrenalingaben zugrundelegten. Damit erschien wegen der unterschiedlichen Resorptionsverhältnisse bereits eine Nivellierung des Katecholaminspiegels im Blut gegenüber intravenösen Gaben möglich, wobei ein langsamerer Anstieg und eine längere Wirkungskdauer wahrscheinlich ist. Vielleicht erreicht damit der Katecholaminspiegel nicht das erforderliche Niveau, woraus möglicherweise nicht die genügende Differenz resultiert, die eine Hyaluronidasehemmung bewirkt. Weiter wurde von VOGEL, ÜBEL und MAREK Adrenalin in 1/4 stündlichen Abständen appliziert, wodurch sich die Verhältnisse weitgehend denen einer Dauerinfusion nähern.

In der Untersuchung von MATHIES und Mitarbeitern (20) zeigt sich, daß Ergotamintartrat mindestens 20 Minuten vor der Adrenalinapplikation gegeben werden muß, um mit Sicherheit dessen hyaluronidasehemmenden Effekt aufzuheben.

Dagegen haben VOGEL und Mitarbeiter (29) Ergotamin 10 Minuten nach der ersten Adrenalingabe intravenös injiziert, woraus sich die Möglichkeit ergab, daß bei den Untersuchungen das Ergotamin noch nicht ausreichend, oder noch garnicht wirksam war. Schließlich legten VOGEL und Mitarbeiter (29) ihren Versuchen die Versuchsanordnung des Hyaluronidase-Oedems der Rattenpfote zugrunde, die nicht die Erfassung der Verhältnisse zu jedem Zeitpunkt des Versuchsablaufs ge-

stattet. Es liegt auf der Hand, daß bei einer durch die erste Adrenalininjektion bereits eingetretenen Hemmung des Pfortenoedems diese nicht durch erst danach erfolgende Ergotaminapplikationen wieder aufgehoben werden kann.

In Untersuchungen unserer Arbeit wurden ebenfalls s.c. Adrenalininjektionen angewandt, um deren Hyaluronidasehemmung festzustellen und vergleichbare Verhältnisse mit VOGEL und Mitarbeitern (29) zu schaffen. Andererseits wurden die ungeeignet erscheinenden Faktoren seiner Versuchsanordnung nicht berücksichtigt.

Die Untersuchungen der hier vorgelegten Arbeit haben gezeigt, daß die subcutane Applikation des Adrenalins in einer Dosierung von $0,5\frac{g}{100}$ g Tier wie bei den intravenösen Gaben eine deutliche Hemmung der Hyaluronidaseaktivität im Spreading-Test bewirkt. Dieser Effekt tritt sehr früh ein, da unmittelbar nach Adrenalingabe die Hyaluronidasehemmung deutlich wird. Bei dieser raschen Resorption bestehen also grundsätzlich keine Unterschiede gegenüber intravenösen Applikationen insofern, als eine genügende Niveaudifferenz des Blutkatecholaminspiegels erzielt wird, um die hyaluronidasehemmende Wirkung sichtbar werden zu lassen.

Eine vergleichende Untersuchung mit Injektionen physiologischer Kochsalzlösung bei subcutaner Applikation in gleicher Gesamtinjektionsmenge ergab keine Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität, womit der Adrenalineffekt eindeutig dokumentiert wird.

IV. A N H A N G

TABELLEN UND ABBILDUNGEN

In den Tabellen 1a - 9a werden die "Lateinischen Quadrate" wiedergegeben, nach denen die "Lokalisationen" der Verfahren innerhalb der neun Versuchsreihen geplant waren. Es wurde für die Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel das Symbol FH gesetzt, für die reine Farbstoff-Quaddel F. Die Kontrollwerte besitzen den Zusatz V. Für die verschiedenen Versuchszeiten wurden die entsprechenden Zeiten selbst gesetzt. Auf der unteren Hälfte der Tabellen 1a - 9a sind die zu den "Lateinischen Quadraten" gehörenden Einzelwerte der jeweiligen Versuchsreihen aufgezichnet.

Die Tabellen 1b - 9b zeigen die Daten der statistischen Auswertung. Auf der oberen Hälfte wiederum sind Varianz-Analysen, auf der unteren Hälfte Verfahren, Mittelwerte, Mittelwertsdifferenz, Irrtumswahrscheinlichkeit und Ausmaß der Hemmung in % angegeben.

Auf den Abbildungen I - III finden sich die Kurven zu den jeweiligen dazugehörigen Versuchsreihen.

Die durchgezogene Linie (FH) zeigt das Ausmaß der Hemmwirkung des Substrats für die Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel an, die unterbrochene Linie (F) gleiches für die reine Farbstoff-Quaddel.

Ordinate und Abszisse stellen dabei jeweils Zeit und Mittelwertsdifferenz $\int \bar{x}(t)$ dar.

Adrenalin: 0,5 γ /100 g Tier

Meßzeiten: 0 und 45 Min. nach Adrenalingabe

"Lateinisches Quadrat"

Gewicht	Tier	Lokalisationen:					
		1	2	3	4	5	6
190	I	F 0	FH V	FH ₄₅	F V	F ₄₅	FH 0
190	II	FH ₄₅	F V	FH 0	F ₄₅	F 0	FH V
180	III	FH 0	F ₄₅	FH V	F 0	FH ₄₅	F V
195	IV	FH V	F 0	F V	FH ₄₅	FH 0	F ₄₅
190	V	F V	FH ₄₅	F ₄₅	FH 0	FH V	F 0
180	VI	F ₄₅	FH 0	F 0	FH V	F V	FH ₄₅

Einzelwerte

Tier	Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddeln			Farbstoff-Quaddeln		
	FH V	FH 0	FH ₄₅	F V	F 0	F ₄₅
I	195	154	132	115	101	81
II	198	175	151	100	80	86
III	210	175	145	110	101	94
IV	220	165	148	104	87	70
V	217	172	163	116	82	75
VI	203	178	147	100	80	68

T a b e l l e 1a

Adrenalin: 0,5 g/100 g Tier

Meßzeiten: 15 und 90 Min. nach Adrenalingabe

"Lateinisches Quadrat"

Gewicht	Tier	Lokalisationen:					
		1	2	3	4	5	6
170	I	FH ₉₀	F ₁₅	FH _V	F _V	F ₉₀	FH ₁₅
170	II	F ₁₅	F ₉₀	FH ₉₀	FH _V	FH ₁₅	F _V
175	III	F ₉₀	FH ₁₅	F ₁₅	FH ₉₀	F _V	FH _V
170	IV	FH ₁₅	F _V	F ₉₀	F ₁₅	FH _V	FH ₉₀
170	V	F _V	FH _V	FH ₁₅	F ₉₀	FH ₉₀	F ₁₅
170	VI	FH _V	FH ₉₀	F _V	FH ₁₅	F ₁₅	F ₉₀

Einzelwerte

Tier	Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddeln			Farbstoff-Quaddeln		
	FH _V	FH ₁₅	FH ₉₀	F _V	F ₁₅	F ₉₀
I	250	200	220	142	100	104
II	200	179	178	102	100	98
III	189	200	140	100	98	94
IV	245	220	194	120	108	118
V	240	176	157	118	92	72
VI	236	185	209	100	84	72

T a b e l l e 2a

Adrenalin: 0,5 γ /100 g Tier

Meßzeiten: 120 und 150 Min. nach Adrenalingabe

"Lateinisches Quadrat"

Gewicht Tier Lokalisationen:

		1	2	3	4	5	6
200	I	F ₁₂₀	FH _V	FH ₁₂₀	FH ₁₅₀	F ₁₅₀	F _V
190	II	FH ₁₂₀	F _V	F ₁₅₀	F ₁₂₀	FH _V	FH ₁₅₀
200	III	F ₁₅₀	FH ₁₅₀	FH _V	FH ₁₂₀	F _V	F ₁₂₀
190	IV	FH _V	F ₁₂₀	F _V	F ₁₅₀	FH ₁₅₀	FH ₁₂₀
190	V	F _V	FH ₁₂₀	FH ₁₅₀	FH _V	F ₁₂₀	F ₁₅₀
200	VI	FH ₁₅₀	F ₁₅₀	F ₁₂₀	F _V	FH ₁₂₀	FH _V

Einzelwerte

Tier	Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddeln			Farbstoff-Quaddeln		
	FH _V	FH ₁₂₀	FH ₁₅₀	F _V	F ₁₂₀	F ₁₅₀
I	170	143	130	125	102	95
II	225	170	140	135	120	112
III	208	185	150	110	95	80
IV	212	165	170	95	102	102
V	227	188	150	130	86	105
VI	180	185	200	119	117	104

Gynergen: 0,8 mg/100 g Tier, 20 Min. vor
 Adrenalin: 0,5 μ /100 g Tier
 Meßzeiten: 0 und 45 Min. nach Adrenalingabe

"Lateinisches Quadrat"

Gewicht Tier Lokalisationen:

		1	2	3	4	5	6
195	I	FH _V	F ₀	FH ₄₅	F _V	FH ₀	F ₄₅
170	II	FH ₄₅	FH _V	FH ₀	F ₄₅	F _V	F ₀
195	III	FH ₀	FH ₄₅	F _V	F ₀	F ₄₅	FH _V
170	IV	F _V	FH ₀	F ₄₅	FH _V	F ₀	FH ₄₅
190	V	F ₄₅	F _V	F ₀	FH ₄₅	FH _V	FH ₀
170	VI	F ₀	F ₄₅	FH _V	FH ₀	FH ₄₅	F _V

Einzelwerte

Tier	Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddeln			Farbstoff-Quaddeln		
	FH _V	FH ₀	FH ₄₅	F _V	F ₀	F ₄₅
I	210	220	220	121	129	103
II	225	212	200	120	125	109
III	245	248	230	115	110	107
IV	215	225	220	100	98	93
V	202	185	208	122	98	105
VI	208	210	200	124	122	120

Gynergen: 0,8 mg/100 g Tier, 20 Min. vor

Adrenalin: 0,5 μ /100 g Tier

Meßzeiten: 15 und 90 Min. nach Adrenalingabe

"Lateinisches Quadrat"

Gewicht Tier Lokalisationen:

		1	2	3	4	5	6
170	I	F ₁₅	F _V	FH ₉₀	FH ₁₅	FH _V	F ₉₀
170	II	F ₉₀	F ₁₅	F _V	FH ₉₀	FH ₁₅	FH _V
170	III	FH _V	F ₉₀	F ₁₅	F _V	FH ₉₀	FH ₁₅
170	IV	FH ₁₅	FH _V	F ₉₀	F ₁₅	F _V	FH ₉₀
175	V	FH ₉₀	FH ₁₅	FH _V	F ₉₀	F ₁₅	F _V
170	VI	F _V	FH ₉₀	FH ₁₅	FH _V	F ₉₀	F ₁₅

Einzelwerte

Tier	Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddeln			Farbstoff-Quaddeln		
	FH _V	FH ₁₅	FH ₉₀	F _V	F ₁₅	F ₉₀
I	210	218	214	102	121	110
II	218	195	200	124	105	113
III	220	192	196	103	110	104
IV	185	228	200	100	106	105
V	180	180	182	98	100	110
VI	237	205	208	115	120	102

T a b e l l e 5a

Gynergen: 0,8 mg/100 g Tier, 20 Min. vor

Adrenalin: 0,5 γ /100 g Tier

Meßzeiten: 120 und 150 Min. nach Adrenalingabe

"Lateinisches Quadrat"

Gewicht Tier Lokalisationen:

		1	2	3	4	5	6
185	I	F ₁₂₀	F ₁₅₀	FH _V	FH ₁₂₀	FH ₁₅₀	F _V
170	II	FH _V	FH ₁₂₀	F ₁₅₀	F _V	F ₁₂₀	FH ₁₅₀
180	III	F ₁₅₀	F _V	FH ₁₂₀	FH ₁₅₀	FH _V	F ₁₂₀
175	IV	FH ₁₂₀	FH ₁₅₀	F _V	F ₁₂₀	F ₁₅₀	FH _V
180	V	F _V	F ₁₂₀	FH ₁₅₀	FH _V	FH ₁₂₀	F ₁₅₀
180	VI	FH ₁₅₀	FH _V	F ₁₂₀	F ₁₅₀	F _V	FH ₁₂₀

Einzelwerte

Tier	Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddeln			Farbstoff-Quaddeln		
	FH _V	FH ₁₂₀	FH ₁₅₀	F _V	F ₁₂₀	F ₁₅₀
I	208	192	200	115	100	120
II	195	212	212	96	105	98
III	205	215	215	108	108	111
IV	198	195	195	112	119	110
V	232	205	205	113	121	102
VI	240	228	228	105	103	110

T a b e l l e 6a

Physiolog. Kochsalzlösung: 0,5 ccm/100 g Tier
Meßzeiten: 0 und 45 Min. nach Kochsalzgabe

"Lateinisches Quadrat"

Gewicht	Tier	Lokalisationen:					
		1	2	3	4	5	6
190	I	F ₄₅	FH ₀	FH _V	FH ₄₅	F _V	F ₀
170	II	FH _V	FH ₄₅	F ₀	F ₄₅	FH ₀	F _V
180	III	F ₀	F ₄₅	F _V	FH _V	FH ₄₅	FH ₀
175	IV	F _V	FH _V	FH ₀	F ₀	F ₄₅	FH ₄₅
170	V	FH ₀	F ₀	FH ₄₅	F _V	FH _V	F ₄₅
180	VI	FH ₄₅	F _V	F ₄₅	FH ₀	F _V	FH _V

Einzelwerte

Tier	Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel			Farbstoff-Quaddeln		
	FH _V	FH ₀	FH ₄₅	F _V	F ₀	F ₄₅
I	230	211	210	132	138	137
II	248	248	230	133	145	133
III	250	252	242	140	145	146
IV	235	257	250	150	146	140
V	215	210	233	153	155	152
VI	220	220	230	125	118	126

T a b e l l e 7a

Physiolog. Kochsalzlösung: 0,5 ccm/100 g Tier

Meßzeiten: 15 und 90 Min. nach Kochsalzgabe

"Lateinisches Quadrat"

Gewicht Tier Lokalisationen:

		1	2	3	4	5	6
200	I	FH ₀	FH ₁₅	F ₉₀	FH ₉₀	F ₀	F ₁₅
170	II	FH ₉₀	F ₉₀	FH ₀	F ₀	F ₁₅	FH ₁₅
195	III	F ₀	FH ₀	FH ₉₀	F ₁₅	FH ₁₅	F ₉₀
170	IV	F ₁₅	FH ₉₀	F ₀	FH ₁₅	F ₉₀	FH ₀
200	V	FH ₁₅	F ₀	F ₁₅	F ₉₀	FH ₀	FH ₉₀
200	VI	F ₉₀	F ₁₅	FH ₁₅	FH ₀	FH ₉₀	F ₀

Einzelwerte

Tier	Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel			Farbstoff-Quaddeln		
	FH _V	FH ₁₅	FH ₉₀	F _V	F ₁₅	F ₉₀
I	223	239	190	140	124	138
II	228	205	210	132	136	118
III	222	200	243	137	116	122
IV	222	195	211	110	140	128
V	225	200	204	134	120	110
VI	212	249	231	132	130	135

Physiolog. Kochsalzlösung: 0,5 ccm/100 g Tier
Meßzeiten: 120 und 150 Min. nach Kochsalzgabe

"Lateinisches Quadrat"

Gewicht	Tier	Lokalisationen:					
		1	2	3	4	5	6
180	I	FH ₁₅₀	F ₁₅₀	F ₁₂₀	F ₀	FH ₁₂₀	FH _V
170	II	FH ₁₂₀	FH _V	F _V	FH ₁₅₀	F ₁₅₀	F ₁₂₀
180	III	F ₁₅₀	F ₁₂₀	FH ₁₅₀	FH ₁₂₀	FH _V	F _V
180	IV	FH _V	F _V	FH ₁₂₀	F ₁₅₀	F ₁₂₀	FH ₁₅₀
180	V	F ₁₂₀	FH ₁₅₀	F ₁₅₀	FH _V	F _V	FH ₁₂₀
180	VI	F _V	FH ₁₂₀	FH _V	F ₁₂₀	FH ₁₅₀	F ₁₅₀

Einzelwerte

Tier	Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel			Farbstoff-Quaddeln		
	FH _V	FH ₁₂₀	FH ₁₅₀	F _V	F ₁₂₀	F ₁₅₀
I	210	190	205	120	117	135
II	222	221	200	120	120	122
III	212	190	185	117	115	110
IV	213	215	225	135	138	135
V	210	190	193	115	118	130
VI	205	190	185	112	116	132

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	508	102	1,38	-
Zwischen Verfahren	5	75,711	15,142	100,00	0,1 %
Zwischen Lokalisationen	5	686	137	1,85	-
Zw. Quaddel-Typen	1	62,333	62,333	100,00	0,1 %
Zw. Kontr.u.Vers.Zt. (F)	1	2,256	2,256	30,49	0,1 %
Zw. Versuchszeiten (F)	1	271	271	3,66	-
Zw. Kontr.u.Vers.Zt.(FH)	1	9,377	9,377	100,00	0,1 %
Zw. Versuchszeiten (FH)	1	1,474	1,474	16,94	0,1 %
Rest-Varianz	20	2,166	87		
Gesamt-Varianz	35	78,385	2,240		
Versuchsstreuung $s = 9,3080 \text{ mm}^2$					

Verfahren	$\bar{x}(t)$ mm ²	d(t) mm ²	Sicherung	Hemmung
F _V	108			
F ₀	89	- 19 ± 11,1	0,1 %	
F ₄₅	79	- 29 ± 11,1	0,1 %	
FH _V	207			
FH ₀	170	- 37 ± 11,1	0,1 %	32,3 %
FH ₄₅	148	- 59 ± 11,1	0,1 %	51,5 %

T a b e l l e 1b

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	5,754	1,151	5,99	5,0 %
Zwischen Verfahren	5	97,292	19,458	100,00	0,1 %
Zwischen Lokalisationen	5	3,123	625	3,26	
Zw. Quaddel-Typen	1	89,600	89,600	100,00	0,1 %
Zw. Kontr.u.Vers.Zt. (F)	1	1,394	1,394	7,26	5,0 %
Zw. Versuchszeiten (F)	1	48	48		
Zw. Kontr.u.Vers.Zt.(FH)	1	5,929	5,929	30,88	0,1 %
Zw. Versuchszeiten (FH)	1	320	320	1,67	
Rest-Varianz	20	3,849	192		

Gesamt-Varianz 35 110,018 3,143

Versuchsstreuung $s = 13,8726 \text{ mm}^2$

Verfahren	$\bar{x}(t)$ mm^2	$d(t)$ mm^2	Sicherung	Hemmung
F_V	114			
F_{15}	97	$- 17 \pm 16,7$	5,0 %	
F_{90}	93	$- 21 \pm 16,7$	5,0 %	
FH_V	227			
FH_{15}	193	$- 34 \pm 16,7$	0,1 %	26,6 %
FH_{90}	183	$- 44 \pm 16,7$	0,1 %	34,8 %

T a b e l l e 2b

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	2,430	486	1,48	
Zwischen Verfahren	5	52,482	10,496	31,90	0,1 %
Zwischen Lokalisationen	5	920	184		
Zw. Quaddel-Typen	1	44,380	44,380	100,00	0,1 %
Zw. Kontr.u.Vers.Zt. (F)	1	1,202	1,202	3,65	
Zw. Versuchszeiten (F)	1	48	48		
Zw. Kontr.u.Vers.Zt.(FH)	1	6,084	6,084	18,49	0,1 %
Zw. Versuchszeiten (FH)	1	768	768	2,33	
Rest-Varianz	20	6,571	329		
Gesamt-Varianz	35	62,403	1,783		
Versuchsstreuung $s = 18,1259 \text{ mm}^2$					

Verfahren	$\bar{x}(t)$ mm ²	$d(t)$ mm ²	Sicherung	Hemmung
F _V	119			
F ₁₂₀	104	- 15 ± 21,8	-	
F ₁₅₀	100	- 19 ± 21,8	-	
FH _V	204			
FH ₁₂₀	173	- 31 ± 21,8	0,1 %	32,2 %
FH ₁₅₀	157	- 47 ± 21,8	0,1 %	48,9 %

T a b e l l e 3b

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	1,777	355	2,59	
Zwischen Verfahren	5	96,745	19,349	100,00	0,1
Zwischen Lokalisationen	5	1,291	258	1,88	
Zw. Quaddel-Typen	1	96,307	96,307	100,00	0,1
Zw. Kontr.u.Vers.Zt. (F)	1	201	201	1,47	
Zw. Versuchszeiten (F)	1	169	169	1,23	
Zw. Kontr.u.Vers.Zt.(FH)	1	28	28		
Zw. Versuchszeiten (FH)	1	40	40		
Rest-Varianz	20	2,737	137		

Gesamt-Varianz 37 102,546 2,930

Versuchsstreuung $s = 11,6983 \text{ mm}^2$

Verfahren	$\bar{x}(t)$ mm^2	$d(t)$ mm^2	Sicherung	Hemmung
F _V	117			
F ₀	114	- 3 ± 14,1	-	
F ₄₅	106	- 11 ± 14,1	-	
FH _V	218			
FH ₀	217	- 1 ± 14,1	-	0,8 %
FH ₄₅	213	- 5 ± 14,1	-	4,3 %

T a b e l l e 4b

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	2,024	405	3,05	5,0 %
Zwischen Verfahren	5	82,432	16,486	100,00	0,1 %
Zwischen Lokalisationen	5	1,182	236	2,02	
Zwischen Quaddel-Typen	1	82,432	82,178	100,00	0,1 %
Zw. Kontr.u.Vers.Zt. (F)	1	13	13		
Zw. Versuchszeiten (F)	1	27	27		
Zw. Kontr.u.Vers.Zt.(FH)	1	187	187	1,60	
Zw. Versuchszeiten (FH)	1	27	27		
Rest-Varianz	20	2,340	117		

Gesamt-Varianz 35 87,978 2,514

Versuchsstreuung $s = 10,81617 \text{ mm}^2$

Verfahren	$\bar{x}(t)$ mm ²	d(t) mm ²	Sicherung	Hemmung
F _V	107			
F ₁₅	110	3 ± 13,0		
F ₉₀	107	0 ± 13,0		
FH _V	208			
FH ₁₅	203	- 5 ± 13,0		5,3 %
FH ₉₀	200	- 8 ± 13,0		8,3 %

T a b e l l e 5b

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	1,083	217	1,61	
Zwischen Verfahren	5	92,507	18,501	100,00	0,1 %
Zwischen Lokalisationen	5	468	94		
Zw. Quaddel-Typen	1	92,416	92,416	100,00	0,1 %
Zw. Kontr.u.Vers.Zt. (F)	1	2	2		
Zw. Versuchszeiten (F)	1	2	2		
Zw. Kontr.u.Vers.Zt.(FH)	1	81	81		
Zw. Versuchszeiten (FH)	1	5	5		
Rest-Varianz	20	2,690	2,764		

Gesamt-Varianz 35 96,748 2,764

Versuchsstreuung $s = 11,5974 \text{ mm}^2$

Verfahren	$\bar{x}(t)$ mm ²	d(t) mm ²	Sicherung	Hemmung
F _V	108			
F ₁₂₀	109	1 ± 14,0		
F ₁₅₀	109	1 ± 14,0		
FH _V	213			
FH ₁₂₀	208	- 5 ± 14,0		5,0 %
FH ₁₅₀	209	- 4 ± 14,0		3,7 %

T a b e l l e 6b

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	2,842	568	3,84	5,0 %
Zwischen Verfahren	5	78,142	15,628	100,00	0,1 %
Zwischen Lokalisationen	5	287	57		
Zw. Quaddel-Typen	1	78,120	78,120	100,00	0,1 %
Zw. Kontr.u.Vers.Zt. (F)	1	6	6		
Zw. Versuchszeiten (F)	1	14	14		
Zw. Kontr.u.Vers.Zt.(FH)	1	0	0		
Zw. Versuchszeiten (FH)	1	1	1		
Rest-Varianz	20	2,968	148		

Gesamt-Varianz 35 84,239 2,407

Versuchsstreuung $s = 12,1820 \text{ mm}^2$

Verfahren	$\bar{x}(t)$ mm^2	$d(t)$ mm^2	Sicherung	Hemmung
F_V	139			
F_0	141	$2 \pm 14,7$	-	
F_{45}	139	$0 \pm 14,7$	-	
FH_V	233			
FH_0	233	$0 \pm 14,7$	-	0,0 %
FH_{45}	233	$0 \pm 14,7$	-	0,0 %

T a b e l l e 7b

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	$F_{emp.}$	p
Zwischen Tieren	5	990	198	1,11	
Zwischen Verfahren	5	72,042	14,408	80,49	0,1 %
Zwischen Lokalisationen	5	1,647	329	1,84	
Zw. Quaddel-Typen	1	71,735	71,735	100,0	0,1 %
Zw. Kontr.u.Vers.Zt. (F)	1	78	78		
Zw. Versuchszeiten (F)	1	19	19		
Zw. Kontr.u.Vers.Zt.(FH)	1	0	0		
Zw. Versuchszeiten (FH)	1	210	210	1,17	
Rest-Varianz	20	3,582	179		

Gesamt-Varianz 35 78,261 2,236

Versuchsstreuung $s = 13,3828 \text{ mm}^2$

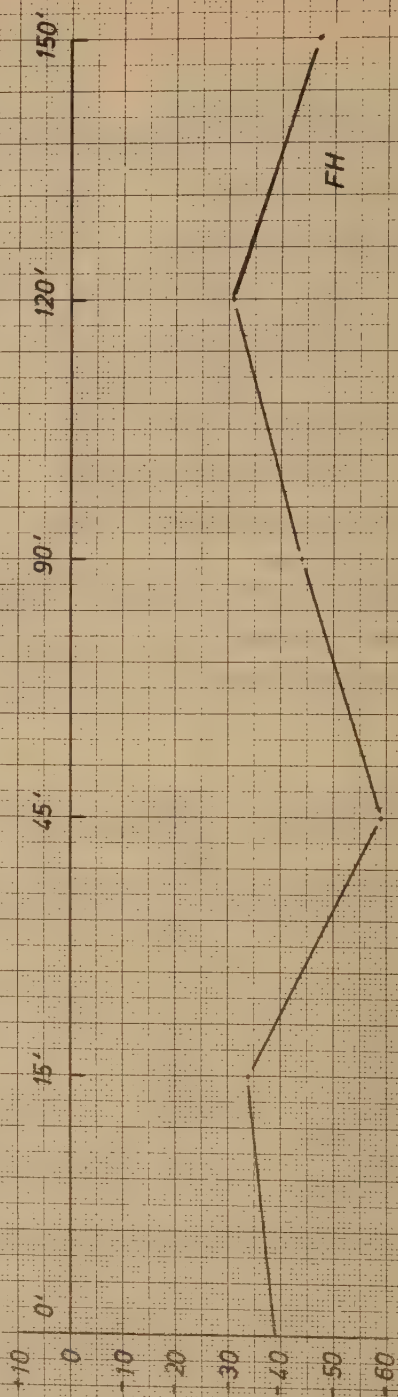
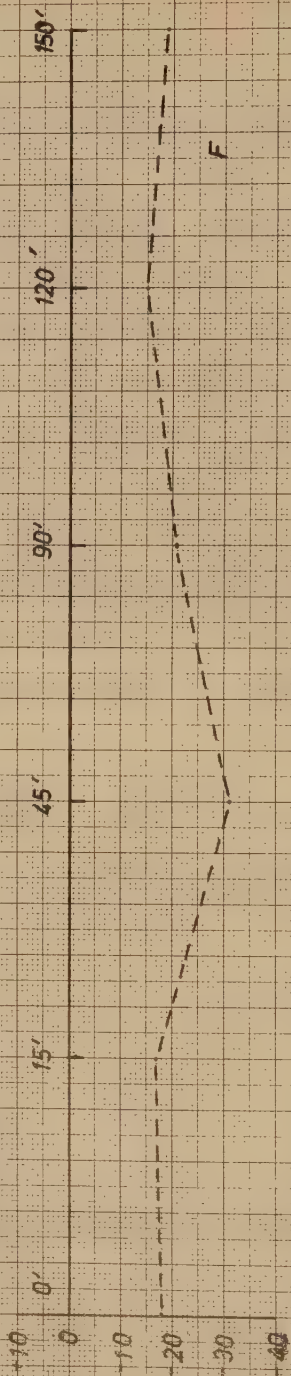
Verfahren	$\bar{x}(t)$ mm^2	$d(t)$ mm^2	Sicherung	Hemmung
F_V	131			
F_{15}	128	$- 3 \pm 16,1$	-	
F_{90}	125	$- 6 \pm 16,1$	-	
FH_V	222			
FH_{15}	215	$- 7 \pm 16,1$	-	7,8 %
FH_{90}	215	$- 7 \pm 16,1$	-	7,6 %

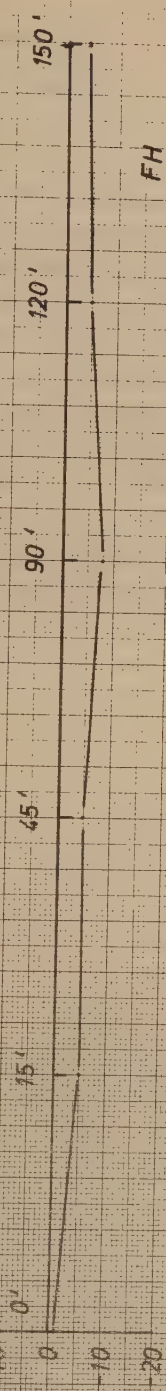
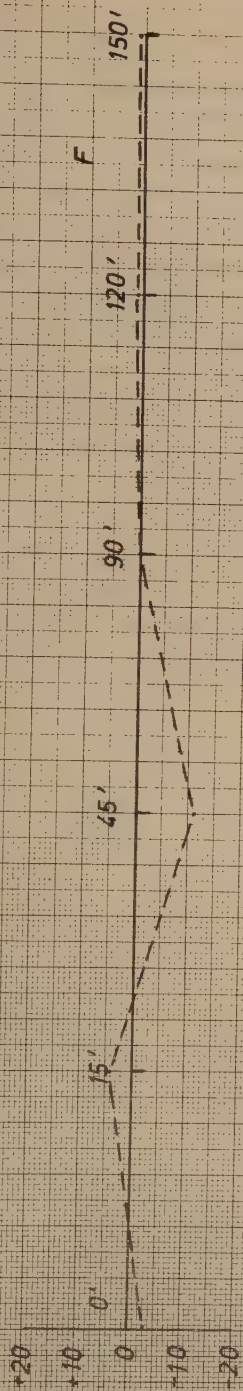
T a b e l l e 8b

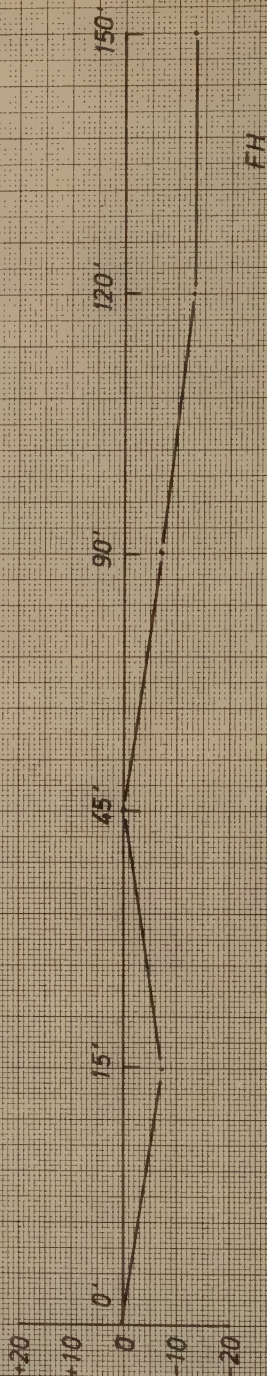
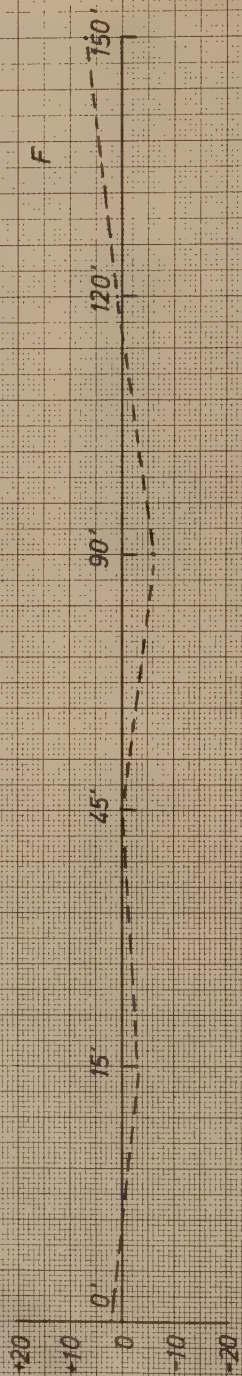
Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	1,991	398	5,61	1,0 %
Zwischen Verfahren	5	59,596	11,919	100,00	0,1 %
Zwischen Lokalisationen	5	124	25		
Zw. Quaddel-Typen	1	58,725	58,725	100,00	0,1 %
Zw. Kontr.u.Vers.Zt. (F)	1	69	69		
Zw. Versuchszeiten (F)	1	133	133	1,87	
Zw. Kontr.u.Vers.Zt.(FH)	1	667	667	9,39	1,0 %
Zw. Versuchszeiten (FH)	1	1	1		
Rest-Varianz	20	1,421	71		
Gesamt-Varianz	35	63,132	1,804		
Versuchsstreuung	s = 8,4291 mm ²				

Verfahren	$\bar{x}(t)$ mm ²	$d(t)$ mm ²	Sicherung	Hemmung
F _V	120			
F ₁₂₀	121	1 [±] 10,2	-	
F ₁₅₀	127	7 [±] 10,2	-	
FH _V	212			
FH ₁₂₀	199	13 [±] 10,2	1,0 %	14,2 %
FH ₁₅₀	199	13 [±] 10,2	1,0 %	14,7 %

T a b e l l e 9b







V. ZUSAMMENFASSUNG

MATHIES und Mitarbeiter stellten eine hyaluronidasehemmende Wirkung des Adrenalins und dessen Blockierung durch Ergotamin-tartrat fest. Nach Untersuchungen von VOGEL und Mitarbeitern mit weitgehend abweichender Versuchsanordnung wurde der blockierende Effekt des Ergotamintartrats auf den ebenfalls von ihm festgestellten hyaluronidasehemmenden Effekt des Adrenalins in Zweifel gezogen. Durch die hier vorgelegte Arbeit wurde als Ursache der widersprechenden Ergebnisse die nicht zeitgerechte Applikation des Ergotamins vor Adrenalin aufgedeckt. Eine Ergotaminapplikation nach Gabe des Adrenalins ist nicht mehr in der Lage, den Adrenalineffekt aufzuheben. Die von MATHIES und Mitarbeitern angegebene blockierende Wirkung des Ergotamins auf den hyaluronidasehemmenden Effekt des Adrenalins wurde prinzipiell bestätigt.

VI. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

- 1) MATHIES, H. u. A. JANKOWSKI: Klin. Wschr. 35, 892 (1957)
- 2) MATHIES, H., I. BIECHELE u. M. HARTMANN: Ärztl. Forsch. XIV, I/160 (1960)
- 3) MATHIES, H. u. H. SCHOLZE: Arzneimittelforsch. 12, 79 (1962)
- 4) MATHIES, H., E. WILL u. V. SCHÜLE: Med. Wschr. 16 (1962)
- 5) MATHIES, H.: Zschr. ges. exp. Med. 131, 118 (1959)
- 6) MATHIES, H. u. H.M. KROTT: Ärztl. Forsch. XVI, I/521 (1960)
- 7) MATHIES, H. u. G.v.WERTHER: Zschr. angew. Bäder-Klimahk. 5, 503 (1958)
- 8) MATHIES, H.: Med. Mschr. 12, 685 (1958)
- 9) MATHIES, H. u. D. LUTZ: Arzneimittelforsch. 10, 689 (1960)
- 10) MATHIES, H., E. FUCHS u. D. HIEKMANN: Fund. baln.-bioklim. 1, 433 (1960)
- 11) PANTLITSCHKO, M. u. E. KAISER: Biochem. Zschr. 322, 137 (1951)
- 12) MATHIES, H.: Arzneimittelforsch. 8, 233 (1958)
- 13) MATHIES, H.: Rheumaforsch. 18, 308 (1959)
- 14) MATHIES, H.: VI. Int. Kongr. Univ. Moorforsch. Juni 1958, Spa
- 15) DOMENJOZ, R.: Arch. exp. Path. Pharmacol. 225, 14 (1955)
- 16) SAYERS, S. u. M. SAYERS: Endocrinology 40, 256 (1947)
- 17) SAYERS, S. u. M. SAYERS: Ann. N.Y. Acad. Sci. 50, 525 (1949)
- 18) MATHIES, H.: Verh. dtsh. Ges. inn. Med. 64. Kongr. 1958
- 19) MATHIES, H.: Ärztl. Forsch. XII, I/87 (1958)
- 20) MATHIES, H., A. GLÜCK, J. POILANTZAS u. D. SCHMIDT: Med. exp. 1, 64 (1959)
- 21) MATHIES, H.: Verh. dtsh. Ges. inn. Med. 65. Kongr. 1959
- 22) MATHIES, H.: Arch. int. pharmacodyn. CXXIII, 334 (1960)
- 23) MATHIES, H.: Arch. exp. Path. Pharmacol. 240, 31 (1960)
- 24) MATHIES, H. u. G. SCHLIERF: Med. exp. 2, 334 (1960)
- 25) MATHIES, H.: Pharmazie 14, 429 (1959)
- 26) MALORNY, G.: Dtsch. med. J. 4, 1 (1955)
- 27) FORST, A.W.: persönliche Mitteilung
- 28) MATHIES, H. u. G.v.WERTHER: Zschr. angew. Bäder-Klimahk. 5, 582 (1958)

- 29) VOGEL, G., H. ÜBEL u. M.L. MAREK: Zschr. ges. exp. med.
134, 1 (1960)
- 30) GÖNNENWEIN, R.: Diss. München 1964
- 31) WILHELMI, G.: zit. Domenjoz, R. (15)
- 32) MADINAVEITIA, J.: Biochemic. J. 32, 1806 (1938)

Herrn Priv.-Doz. Dr. H. Mathies bin ich wegen der Überlassung des Themas und wegen seiner verständnisvollen Betreuung zu großem Dank verpflichtet.

Herrn Professor Dr. W. Seitz danke ich für die Möglichkeit, diese Arbeit an seiner Klinik ausführen zu können.

Herrn Dipl.-Math. K. G. Liebrich danke ich für die Durchführung der statistischen Auswertung.

Lebenslauf

Am 9. 3. 1937 wurde ich als zweites Kind des Oberingenieurs Martin Dobler und dessen Ehefrau Lissy, geb. Graf in Stuttgart geboren. Von 1948 bis 1951 besuchte ich das Realgymnasium in Göppingen/Württemberg. Von 1951 bis 1956 war ich Schülerin am Realgymnasium der Englischen Fräulein in Augsburg. Die Reifeprüfung legte ich im Juni 1957 am Realgymnasium der Armen Schulschwestern am Anger zu München ab.

Im Wintersemester 1957/58 begann ich das Studium der Medizin an der Ludwig-Maximilians-Universität in München. 1960 legte ich hier die Ärztliche Vorprüfung, nach 6 klinischen Semestern die Ärztliche Staatsprüfung am 12. 10. 1964 ab. Im Sommer 1961 nahm ich an der Poliklinik die vorgelegte Doktorarbeit an.

Im Februar 1965 begann ich die Medizinalassistentenzeit an der Gynäkologischen Abteilung des Kreiskrankenhauses Freising. Von Mai 1965 bis Oktober 1965 war ich an der Medizinischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses Itzehoe/Holstein tätig. Ab November 1965 arbeitete ich an der II. Chirurgischen Abteilung des Städt. Krankenhauses München-Schwabing, von dort trat ich in die Abteilung für Kinderkrankheiten im selben Hause über, wo ich bis Juni 1966 tätig war. z.Z. arbeite ich an der II. Medizinischen Abteilung des Schwabinger Krankenhauses.

